ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 27, 5, 1993

УДК 577.1.576.895.122

© 1993

АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗЫ ТРЕМАТОД, ПАРАЗИТИРУЮЩИХ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, И ВЛИЯНИЕ НА НИХ НЕКОТОРЫХ АНТГЕЛЬМИНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Э. А. Буренина

Изучены активности и свойства аденозинтрифосфатаз в митохондриальных и микросомальных фракциях трематод *Eurytrema pancreaticum* и *Calicophoron ijimai*. Наибольшая АТФазная активность наблюдалась в митохондриальных фракциях. Испытано действие антгельминтных препаратов на активность фермента, наиболее эффективными оказались трихлорофен, битионол, оксинид, Г-937, Г-1028.

Углеводный и энергетический обмен гельминтов значительно отличается от подобного обмена позвоночных, что может быть основой для рационального поиска новых антгельминтных препаратов. Узловым моментом энергетического обмена является образование и гидролиз молекул АТФ в митохондриях. Митохондриальная АТФаза является самым высокомолекулярным компонентом АТФазного комплекса. Изучение возможности блокировки этого процесса у гельминтов антгельминтными препаратами представляет значительный практический интерес с точки зрения разработки высокочувствительной биохимической модели для предварительного отбора препаратов.

Информация об энзимах плоских червей ограничена в противоположность обширным данным по млекопитающим, дрожжам и бактериям. Поскольку паразитические черви обладают широко варьирующими путями обмена, каждый вид гельминта должен быть исследован как уникальный случай.

Целью нашей работы было определение активности и свойств АТФаз у трематод *Calicophoron ijimai* (Fukui, 1922) Näsmark, 1937 (Trematoda, Paramphistomidae), паразитирующей в рубце, и *Eurytrema pancreaticum* из подотряда Plagiorchiata, сем. Dicrocoeliidae, паразитирующей в поджелудочной железе крупного рогатого скота, а также установление возможности ингибирования АТФазной системы некоторыми препаратами, обладающими антгельминтной активностью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эуритрем извлекали из поджелудочной железы, каликофоронов — из рубца крупного рогатого скота на бойнях г. Владивостока и Уссурийска, доставляли в лабораторию в термосах в среде Гедон-Флейга. Митохондрии и микросомы выделяли по общепринятой методике (Выхрестюк и др., 1986).

Инкубационная среда для эуритрем содержала (конечная концентрация в мМ): трис — 200, ЕДТА — 1, NaCl — 2, KCl — 2, $MgCl_2$ — 3, $CaCl_2$ — 5, $MnCl_2$ — 5, уабаин — 4; для каликофоронов: трис — 200, ЕДТА — 1, NaCl — 2, KCl — 2, $MgCl_2$ — 6, $CaCl_2$ — 6, $MnCl_2$ — 2, уабаин — 4. Объем пробы 1.2 мл, количество белка 0.1—0.15 мг в 0.1 мл. Антгельминтные препараты растворяли в этаноле и вносили в опытную пробу в объеме 0.1 и 0.2 мл. Параллельно, чтобы исключить ингибирующее влияние спирта на фермент, ставили контроль на спирт. Пробы инкубировали в водяной бане при 37° в течение 30 мин, преинкубация — 10 мин; реакцию начинали добавлением 3 мМ АТФ, останавливали введением 0.5 мл 20%-го ТХУ и охлаждением на льду. В контрольную пробу белок вносили после добавления 20%-го ТХУ. Пробы центрифугировали 15 мин при 4 тыс. об./мин. В надосадочной жидкости измеряли содержание неорганического фосфора по Кочетову (1980), белок — по Лоури (Lowry e. a., 1951).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

АТФазная активность в митохондриальной и микросомальной фракциях эуритрем и каликофоронов изучается впервые. Для определения ферментативной активности у изучаемых гельминтов подбирали такие концентрации субстрата, ионов металлов, энзимного белка и величину pH, при которых скорость реакций была максимальной.

Оптимум АТФазной активности и в митохондриальной, и в микросомальной фракциях каликофоронов находится при pH 7.3, а у эуритрем — при pH 8.4. У других гельминтов оптимум pH колеблется от 6.0 до 9.5 (Повякель, 1968; Langer e. a., 1972; Rew, Saz, 1974; Rahman e. a., 1981; Podesta, McDiarmid, 1982; Савченко, 1983; Noël, Soares de Moura, 1986; Shaw, 1987; Kumar, 1987). Такой разброс оптимумов pH у гельминтов определяется сложностью строения АТФаз, локализацией, а также вариабельностью условий, в которых исследовалась АТФазная активность.

АТФазная активность была изучена в четырех субклеточных фракциях. Активность фермента у каликофоронов и эуритрем распределялась соответственно: в супернатанте 12 тыс. — 56.1±1.2 и 43.4±1.2, в митохондриях — 297.5±2.4 и 270.1±1.8, в микросомах — 203.6±0.6 и 104.3±2.3, в цитозоле 105 тыс. g — 26.6±0.7 и 8.53±1.2 нмолей Р/мин/мг белка. Наибольшая АТФазная активность была локализована в митохондриях. В большинстве животных клеток АТФаза в основном присутствует в митохондриях, общая активность митохондриальной АТФазы составляет около 60—90 % от общей активности АТФаз клетки (Иващенко, 1982). В дрожжевых клетках АТФаза локализована преимущественно в митохондриях, однако обнаружена и в плазматической мембране (Ryrie, 1975; Recktenwald, Hess, 1977); в клетках высших растений — в митохондриях и мембранах тилакоидов хлоропластов (Nelson e. a., 1972; Sullivan, Volcani, 1975). Это свидетельствует о широкой распространенности АТФаз в клетках бактерий, растений и животных, и поэтому имеются основания утверждать, что они появились уже на ранних этапах эволюции живых систем и, вероятно, выполняют одну из самых жизненно необходимых функций в клетках.

В связи с тем что одной из главных функций АТФазы является активный транспорт неорганических катионов через мембрану, нами было изучено влияние различных ионов металлов на активность фермента эуритрем и каликофоронов. Решающее влияние на активность АТФазной реакции оказывает ионный состав среды инкубации. При отсутствии ионов в среде инкубации гидролиз АТФ проходит на низком уровне и у эуритрем, и у каликофоронов (табл. 1). Введение в среду инкубации одновалентных катионов Na^+ и K^+ практически не изменяло величину АТФазной активности в микросомальных фракциях по сравнению с митохондриальными. Однако введение в инкубационную среду двухвалентных катионов отдельно и в сочетании с одновалентными катионами изменяет картину ферментативной активности (табл. 1). Как известно, Mg^{2+} необходим для всех ферментативных реакций, включающих пере-

Таблица 1

Влияние различных ионов и эффекторов на АТФазную активность трематод (нмоль Р/мин/мг белка)

An influence of different ions and effectors on ATPase activity of trematodes (nmol P/min/mg of protein)

Добавка	*Eurytrema pancreaticum*		*Calicophoron ijimai*	
	митохондрии	микросомы	митохондрии	микросомы
Без ионов *	6.9±1.2	15.9±2.8	10.9±0.5	10.1±1.6
$+K^+$	13.5±0.6	14±2.1	15.7±0.9	11.1±0.7
$+Na$	11.3±0.8	0	14.4±0.5	0
$+Mg^{2+}$	256.9±2.7	101.8±1.9	365.7±5.7	267.7±1.9
$+Ca^{2+}$	27.6±0.2	28±0.7	173.8±2	133.7±1.5
$+Mn^{2+}$	27.6±0.2	19.8±1.7	237.3±2.4	138.2±0.5
$+K^+$, Na^+, Mg^{2+}	270.1±1.8	104.3±2.3	297.5±2.4	203.6±0.6
$+K^+$, Na^+, Ca^{2+}	293.2±4.5	246.3±4.2	189.9±1.2	182.5±1.6
$+K^+$, Na^+, Mn^{2+}	263.5±4.1	70.2±0.5	270.6±1.6	218.1±2.5
$+K^+$, Na^+, Mg^{2+} + п-хмб	175±2	169.8±2	110.1±0.8	78.5±1.2
$+K^+$, Na^+, Mg^{2+} + ДТТ + п-хмб	304.2±3.1	86.1±0.6	284.2±0.9	117.8±1.6
$-HCO_3^-$	8.9±1.1	7.3±2.3	11.4±0.7	3.01±0.9
$+Mg^{2+}$, HCO_3^-	231.5±1.8	97.3±2.7	228.4±3.6	127.3±2.8

Примечание. * Инкубационная среда содержала 200 мМ трис, 1 мМ ЕДТА, 3 мМ АТФ, белок — 0.1—0.15 мг.

нос фосфатной группы. В обеих субклеточных фракциях эуритрем и каликофоронов АТФазная активность с Mg^{2+} была выше, чем с Ca^{2+} и Mn^{2+}. При инкубации в присутствии одновалентных катионов эффективность влияния двухвалентных катионов в обеих фракциях образует следующие ряды: $Mg^{2+} > Ca^{2+} > Mn^{2+}$ у эуритрем и $Mg^{2+} > Mn^{2+} > Ca^{2+}$ у каликофоронов. Величина K_m митохондриальных и микросомальных АТФаз эуритрем и каликофоронов в зависимости от присутствия двухвалентных катионов представлена в табл. 2. Ионы двухвалентных металлов по-разному влияют на активность АТФаз, выделенных из других паразитических червей. Внесение в среду инкубации ионов Mg^{2+} вызывало увеличение активности АТФазы трихинелл (Agosin, Aravena, 1959), фасциол (Савченко, 1983), аскарид (Повякель, 1968), шисто-

Таблица 2

Кинетические параметры аденозинтрифосфатаз эуритрем и каликофоронов в зависимости от присутствия двухвалентных катионов

A dependence of cinetical parameters of adenotriphosphatases of euritrems and calicophorones upon bivalent cations

Исследуемая фракция	Mg^{2+}		Ca^{2+}		Mn^{2+}	
	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}
Eurytrema pancreaticum						
Митохондрии	$2.8 \cdot 10^{-2}$	454.5	$1 \cdot 10^{-2}$	666.7	$1.4 \cdot 10^{-2}$	666.7
Микросомы	$9.1 \cdot 10^{-2}$	166.7	$2.2 \cdot 10^{-3}$	333.3	$1.6 \cdot 10^{-3}$	125
Calicophoron ijimai						
Митохондрии	$3.1 \cdot 10^{-3}$	387.6	$1.3 \cdot 10^{-3}$	200	$1.8 \cdot 10^{-3}$	266.7
Микросомы	$1.4 \cdot 10^{-3}$	173.9	$2 \cdot 10^{-2}$	666.7	$2.5 \cdot 10^{-3}$	181.8

Примечание. K_m выражена в М, V_{max} — в нмолях Р/мин/мг белка.

Таблица 3

Действие ионов и ингибиторов на АТФазную активность эуритрем и каликофоронов (в % от контроля)

The action of ions and inhibitors on ATPase activity of euritrems and calicophorons (in % to control)

Ионы, ингибиторы	*Eurytrema pancreaticum*		*Calicophoron ijimai*	
	митохондрии	микросомы	митохондрии	микросомы
K^+, Na^+, Mg^{2+}	100	100	100	100
$+Ca^{2+}$ (6 мМ)	—46.8	—14.8	—43.4	—44.1
+NaSCN (5 мМ)	—37	—14	—54.5	—49.1
$+NaN_3$ (5 мМ)	—88.9	—56	—85.5	—77.8
$+HCO_3^-$ (5 мМ)	—24.1	—8.8	0	+11
+п-хмб ($5 \cdot 10^{-5}$ М)	—35.2	+62.8	—63	—61.4
+АДФ (3 мМ)	—10	+72.4	—13.1	+20.5
+NaF (30 мМ)	—77.3	—75.9	—49.9	—74.5
+2.4—ДНФ (20 мМ)	+4.8	—12.9	+5.6	+27.1
Mg^{2+}+уабаин (4 мМ)	—10	+4.6	—37	—33.3

сом (Podesta, McDiarmid, 1982). АТФаза гомогенатов тканей и тегументальная АТФаза шистосом при введении Ca^{2+} в инкубационную среду имели большую активность, чем в присутствии Mg^{2+} (Nechay e. a., 1980; Cesari e. a., 1981). А мышечная АТФаза пищеварительного и полового трактов свиной аскариды стимулируется в присутствии ионов Ca^{2+} и ингибируется в присутствии Mg^{2+} (Langer e. a., 1972). Козлов и Кононенко (1975) и Болдырев и Твердислов (1978), исследуя влияние двухвалентных катионов на активность АТФаз, считают, что двухвалентный катион необходим для образования субстрата АТФазы. Установлено, что не АТФ, а комплекс Mg^{2+}—АТФ является истинным субстратом для митохондриальных и других АТФаз (Скулачев, Козлов, 1977). Известно, что Mg^{2+} обладает большим сродством к АТФ и при наличии катионов в растворе в эквимолярных количествах образуют комплекс Mg^{2+}—АТФ. Другие двухвалентные катионы обладают меньшим сродством по сравнению с Mg^{2+} и с неодинаковой эффективностью заменяют Mg^{2+} в АТФ-гидролазной реакции. Причина этого может заключаться в пониженной способности ионов образовывать комплекс Me^{2+}—АТФ или же они обладают неодинаковым сродством к активному центру АТФазы (Иващенко, 1982).

Исследованиями последних лет установлено, что ионы HCO_3^- в качестве катализаторов эффективно влияют на активность ряда ферментов и являются субстратом для многих ключевых метаболических реакций (Иващенко, 1982). В наших опытах при введении аниона HCO_3^- в среду инкубации без катионов гидролиз АТФ протекал очень слабо (табл. 1). Влияние аниона HCO_3^- на АТФазу в присутствии ионов Mg^{2+}, Na^+ и K^+ представлено в табл. 3. Аналогичные данные были получены при изучении АТФаз мембран, выделенных из поверхностного эпителиального синцитиума *Hymenolepis diminuta* (Rahman e. a., 1981). При изучении влияния аниона HCO_3^- на АТФазы наружной и внутренней мембран поверхностного эпителиального синцитиума шистосом был выявлен небольшой стимулирующий эффект (Podesta, McDiarmid, 1982).

Уабаин, специфический блокатор гидролиза АТФ и активного транспорта одновалентных катионов, в концентрации 10^{-4} М не влиял на АТФазы эуритрем и каликофоронов (табл. 3), что свидетельствует об отсутствии в тканях эуритрем и каликофоронов $(Na^+ + K^+)$—АТФазы. Уабаин обычно добавляется в среду инкубации в тех случаях, когда в препаратах мембран необходимо исключить влияние $(Na^+ + K^+)$—АТФазы. $(Na^+ + K^+)$—АТФаза из «каркаса» шистосом была в 10 раз более чувствительна к уабаину, чем энзим из тегумента (Noël, Soares de Moura, 1986). АТФаза гомогенатов тканей тегумента и АТФаза внутренней мембраны поверхностного эпителиального синцитиума шистосом ингибировалась уабаином (Nechay e. a., 1980; Cesari e. a., 1981; Podesta, McDiarmid, 1982), а АТФаза мембран микротрихий поверхностного эпителиального синцитиума *H. diminuta* не чувствительна к уабаину (Rahman e. a., 1981).

Нами было исследовано влияние азида натрия и фторида натрия на АТФазную активность митохондрий и микросом эуритрем и каликофоронов. Данные исследований представлены в табл. 3. Азид натрия и фторид натрия являются самыми сильными ингибиторами АТФазной реакции. Азидчувствительной была АТФаза из тегумента и «каркаса» шистосом во всех субклеточных фракциях (Noël, Soares de Moura, 1986) и в митохондриях фасциол (Бенедиктов, 1982; Савченко, 1986). Энзим внутренней мембраны поверхностного эпителиального синцитиума шистосом ингибировался азидом, а энзим наружной мембраны шистосом не был чувствителен к действию азида (Podesta, McDiarmid, 1982), как и энзим цестоды *Penetrocephalus ganapatii* (Dhandayuthapani, Nellaiappan, 1989). Mg^{2+}—АТФаза митохондрий фасциолы оказалась также высокочувствительной к влиянию фторида натрия (Бенедиктов, 1982).

Динитрофенол, являясь ингибитором аэробного фосфорилирования и индуцированного синтеза ферментов, незначительно стимулировал активность митохондриальной АТФазы эуритрем и каликофоронов и микросомальной АТФазы каликофоронов (табл. 3). Микросомальная АТФаза эуритрем была ингибирована. Бенедиктов (1982), изучая действие 2.4—ДНФ на АТФазную активность аскарид и фасциол, обнаружил, что динитрофенол в высоких концентрациях незначительно стимулировал активность фермента аскарид, в большей степени стимулировал активность фермента фасциол. Аналогичный эффект динитрофенола на митохондриальную АТФазу был получен для фасциол (Савченко, 1986) и для цестоды *P. ganapatii* (Dhandayuthapani, Nellaiappan, 1989). Хайяши (Hayashi, 1973) вообще не отметил увеличения активности АТФазы аскарид при добавлении 2.4—ДНФ.

В поддержании активности АТФаз существенную роль играют SH-группы фермента, поскольку некоторые реагенты на эти группы угнетали ее активность. Так, парахлормеркурибензоат (п-хмб) ингибировал фермент митохондрий и микросом каликофоронов и митохондрий эуритрем, а фермент микросом эуритрем был стимулирован (табл. 3). Ингибирующий эффект п-хмб снимался 0.1 М дитиотрейтолом (табл. 1). Скулачев и Козлов (1977) считают, что Mg—АТФ защищал фермент от действия п-хмб (скорость ингибирования в присутствии субстрата замедлялась). Дандайютапани и Неллайаппан (Dhandayuthapani, Nellaiappan, 1989) считают, что SH-группы митохондриальной АТФазы цестоды *P. ganapathii* играют ограниченную роль в гидролизе АТФ, так как АТФаза обладает незначительной чувствительностью к п-хмб.

Тиоцианат, ингибирующий транспорт анионов, подавлял АТФазную активность в митохондриальных и микросомальных фракциях эуритрем и каликофоронов (табл. 3). Ингибиторный эффект тиоцианата у эуритрем был ниже, чем у каликофоронов. Действие тиоцианата на АТФазу мембран микротрихий поверхностного эпителиального синцитиума *H. diminuta* и на АТФазу наружной и внутренней мембран поверхностного эпителиального синцитиума шистосом было незначительным или вообще не имело эффекта (Podesta, McDiarmid, 1982; Rahman e. a., 1981), как и на фермент *P. ganapatii* (Dhandayuthapani, Nellaiappan, 1989).

Продукт гидролиза АТФ аденозиндифосфат в эквимолярной концентрации должен угнетать активность АТФазы. Но такого эффекта мы не получили (табл. 3). Оказалось, что введение в инкубационную среду АДФ в незначительной степени угнетало фермент митохондрий эуритрем и каликофоронов, а на микросомальные ферменты АДФ имел стимулирующий эффект.

Гидролиз АТФ представляет собой сложную реакцию, в которой участвуют

Таблица 4

Гидролиз различных нуклеозид-5-трифосфатов в митохондриях и микросомах эуритрем и каликофоронов (в %)

The hydrolysis of different nucleosid-5-triphosphates in mitochondriae and microsomes of eurytrems and calicophorons (in %)

Субстрат	*Eurytrema pancreaticum*		*Calicophoron ijimai*	
	митохондрии	микросомы	митохондрии	микросомы
АТФ	100	100	100	100
ИТФ	—42	—14.8	+56.9	+22
ГТФ	—70.1	—44	—59	—34

ионы Na^+, K^+ и Mg^{2+}. Фермент способен фосфорилироваться в присутствии неорганического фосфата с последующим переносом фосфата на адениловую кислоту. Кроме АТФ, фермент может гидролизовать все нуклеотиды и фосфорные эфиры многих соединений, но активные потоки ионов в измеримых количествах обнаруживаются лишь при гидролизе АТФ и ИТФ (Болдырев, 1985). В связи с этим интересно было посмотреть, как в изучаемых фракциях гельминтов проходит гидролиз других нуклеозид-5-трифосфатов (ИТФ и ГТФ). Данные эксперимента представлены в табл. 4, из которой видно, что и митохондриальные, и микросомальные фракции эуритрем и каликофоронов способны гидролизовать, кроме АТФ, ИТФ и ГТФ. Для каликофоронов предпочтительным нуклеозид-5-трифосфатом является ИТФ в обеих субклеточных фракциях.

Подводя итог проведенным экспериментам, можно сделать вывод, что митохондриальные и микросомальные фракции эуритрем и каликофоронов обладают АТФазной активностью, зависимой от присутствия катионов Mg^{2+} и Ca^{2+}. $(Na^+ + K^+)$—АТФаза не была обнаружена. Наибольшая АТФазная активность наблюдалась в митохондриальных фракциях.

Необходимость поиска новых высокоэффективных и малотоксичных антгельминтиков на основе глубокого изучения обмена веществ у гельминтов очевидна. АТФаза является одной из парциальных реакций окислительного фосфорилирования, изменение активности которой под влиянием антгельминтика может привести к серьезным нарушениям энергетического обмена гельминта. В работе АТФазы принимают участие ферменты, которые в иных условиях осуществляют синтез АТФ, поэтому торможение АТФазы фактически тождественно ингибированию АТФ-синтетазы. При работе АТФазной системы

Таблица 5

Влияние антгельминтных препаратов на АТФазную активность трематод (в % от контроля)

An influence of anthelmintic preparations on ATPase activity in trematodes (in % to control)

Антгельминтные препараты (10^{-4} M)	*E. pancreaticum*		*C. ijimai*	
	митохондрии	микросомы	митохондрии	микросомы
Празиквантель	—23.19	—14.72	—27.75	—6.51
Ацемидофен	—23.93	+0.6	—11.44	+1.54
Трихлорофен	—80.94	—70.57	—46.04	—57.28
Г-937	—90.4	—64.27	—72.41	—76.24
Г-1028	—78.58	—74.47	—80.64	—79.5
Битионол	—80.5	—66.07	—84.6	—75.67
Фенбендазол	—49.78	—24.33	—22.61	—49.03
Оксинид	—78.16	0	—100	0
Тиабендазол	—3.48	0	—7.6	0

принимает участие только цепь переноса энергии, что позволяет в чистом виде наблюдать действие ингибиторов. Нами было испытано влияние 9 важнейших противотрематодных препаратов на активность АТФазы в митохондриальных и микросомальных фракциях эуритрем и каликофоронов. Данные эксперимента представлены в табл. 5. Оксинид и тиабендазол в инкубационную среду вводились в объеме 0,2 мл. В микросомальных фракциях и в контроле, и в опыте спирт ингибировал активность фермента, поэтому данных не получили. Наиболее эффективными из изученных препаратов оказались трихлорофен, битионол (представитель бисфенола), оксинид (производное битионола) и препараты Г-937, Г-1028 (представители салициланилидов). Эти результаты согласуются с данными Бенедиктова (1982) по действию битионола и оксинида на АТФазу фасциол. Испытывая фасциолоцидные препараты на АТФазу митохондрий фасциол, Савченко (1986) отметил, что ацемидофен в концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ M незначительно ингибировал активность фермента. В наших опытах ацемидофен незначительно ингибировал митохондриальные АТФазы эуритрем и каликофоронов, а микросомальные АТФазы даже активировал. Празиквантель был неэффективен при действии на АТФазу гомогенатов шистосом (Nechay e. a., 1980), а в наших опытах ингибиторный эффект в митохондриальных фракциях был выше, чем в микросомальных. Тиабендазол в концентрации от $1 \cdot 10^{-3}$ M до $5 \cdot 10^{-4}$ M ингибировал АТФазу в гомогенатах сколексов *Echinococcus granulosus* на 50—100 % (Бенедиктов, 1980), а АТФаза самцов, самок и личинок третьей степени *Bunostomum trigonocephalum* ингибировалась незначительно (Kumar, 1987), как в наших опытах.

Анализируя данные о действии антгельминтных препаратов на АТФазу эуритрем и каликофоронов, можно сделать вывод, что АТФаза является хорошей моделью для установления действия антгельминтных препаратов, затрагивающих энергетический обмен трематод.

Список литературы

Бенедиктов И. И. Эффект антгельминтиков на АТФазу и дегидрогеназные системы в сколексах Echinococcus multilocularis // Тез. докл. IX конф. Укр. паразитол. об-ва. Часть I. Киев: Наукова думка, 1980. С. 69.

Бенедиктов И. И. Пути биологического окисления и энергетический обмен у гельминтов и биохимический механизм действия антгельминтиков: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1982. 48 с.

Болдырев А. А. Биологические мембраны и транспорт ионов. Изд-во МГУ, 1985. 207 с.

Болдырев А. А., Твердислов В. А. Молекулярная организация и механизм функционирования Na-насоса. М.: Изд-во МГУ, 1978. 208 с.

Выхрестюк Н. П., Буренина Э. А., Ярыгина Г. В. Малатдегидрогеназа и лактатдегидрогеназа у трематод и турбеллярий // Журн. эвол. биохим. физиол. 1986. Т. 22, № 1. С. 24—29.

Иващенко А. Т. Анионные аденозинтрифосфатазы. Алма-Ата: Наука. 1982. 138 с.

Козлов И. А., Кононенко В. А. Взаимодействие растворимой митохондриальной АТФазы с адениловыми нуклеотидами и Mg^{2+} // Биоорг. хим. 1975. Т. 1, № 4. С. 489—493.

Кочетов Г. А. Метод определения неорганического фосфора // Практическое руководство по энзимологии. М.: Высш. шк., 1980. С. 215—216.

Повякель Л. И. Аденозинтрифосфатазная активность в митохондриях мышечной ткани аскариды (Ascaris suum Goeze, 1758) // Мед. паразитол. 1968. Т. 37, № 5. С. 530—533.

Савченко А. В. Фосфорилирующая и АТФазная активности митохондрий Fasciola hepatica // Бюл. Всес. ин-та гельминтол. 1983. Вып. 35. С. 67—68.

Савченко А. В. Особенности энергетического обмена у Fasciola hepatica и влияние на него некоторых фасциолоцидных препаратов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1986. 27 с.

Скулачев В. П., Козлов И. А. Протонные аденозинтрифосфатазы. Молекулярные биологические генераторы тока. М.: Наука, 1977. 93 с.

Agosin M., Aravena L. C. Anaerobic glycolysis in homogenates of Trichinella spiralis larvae // Exptl. Parasitol. 1959. Vol. 8, N 1. P. 10—30.

Cesari T. M., Simpson A. J. G., Evans W. H. Properties of a series of tegumental membrane-bound phosphohydrolase activities of Schistosoma mansoni // Biochem. J. 1981. Vol. 198, N 3. P. 467—473.

Dhandayuthapani S., Nellaiappan K. Mitochondrial adenosine triphosphatase of Penetrocephalus ganapatii (Cestoda: Pseudophyllidea) in relation to activators and inhibitors // Proc. Indian Acad. Sci. Anim. Sci. 1989. Vol. 98, N 4. P. 249—257.
Hayashi H. ATP formation by mitochondria from Ascaris lumbricoides var. suis // Jap. J. Parasitol. 1973. Vol. 22, N 3. P. 97—107.
Kumar S. Bunostomum trigonocephalum: the in vitro effects of anthelmintics on the enzyme activities // Helminthologia. 1987. Vol. 24, N 2. P. 133—140.
Langer B. W. Jr., Smith W. J., Theodorides V. J. Nematode metabolism: the adenosine triphosphate of Ascaris suum muscle // Biochem. J. 1972. Vol. 128, N 4. P. 991—992.
Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, N 1. P. 265—275.
Nechay B. R., Hillman G. R., Dotson M. J. Properties and drug sensitivity of adenosine triphosphatases from Schistosoma mansoni // J. Parasitol. 1980. Vol. 66, N 4. P. 596—600.
Nelson N., Nelson H., Racker E. Partial resolution of the enzymes catalyzing phosphorylation // J. Biol. Chem. 1972. Vol. 247, N 20. P. 6506—6510.
Noël F., Soares de Moura R. Schistosoma mansoni: preparation, characterization of $(Na^+ + K^+)$ ATPase from tegument and carcass // Exptl. Parasitol. 1986. Vol. 62, N 2. P. 298—307.
Podesta R. B., McDiarmid S. S. Enrichment and partial enzyme characterization of ATPase activity associated with the outward—facing membrane complex and inward—facing membrane of the surface epithelial syncytium of Schistosoma mansoni // Mol. Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 6, N 4. P. 225—236.
Rahman M. S., Mettrick D. F., Podesta R. B. Properties of a Mg^{2+}-dependent and Ca^{2+}-inhibited ATPase localized in the brush border of the surface epithelial syncytium of a parasitic flatworm // Canad. J. Zool. 1981. Vol. 59, N 6. P. 918—923.
Recktenwald D., Hess B. Allosteric influence of anions on mitochondrial ATPase of yeast // FEBS Letters. 1977. Vol. 76, N 1. P. 25—28.
Rew R. S., Saz H. J. Enzyme localization in the anaerobic mitochondria of Ascaris lumbricoides // J. Cell Biol. 1974. Vol. 63, N 1. P. 125—135.
Ryrie I. J. Purification and partial characterization of the oligomycin — sensitive ATPase from yeast mitochondria // Archiv. Biochem. Biophys. 1975. Vol. 168, N 2. P. 712—719.
Shaw M. K. Schistosoma mansoni: fine structural localization of tegumental adenosine triphosphatases // Exptl. Parasitol. 1987. Vol. 64, N 3. P. 310—321.
Sullivan C. W., Volcani B. E. Multiple ion — stimulated adenosine triphosphatase activities associated with membranes of diatom Nitzschia alba // Archiv. Biochem. Biophys. 1975. Vol. 167, N 2. P. 437—443.

Биолого-почвенный институт, Владивосток Поступила 27.05.1992

ADENOSINE TRIPHOSPHATASES OF TREMATODES PARASITIZING IN THE CATTLE AND EFFECT OF SOME ANTHELMINTIC PREPARATIONS

E. A. Burenina

Key word: *Eurytrema pancreaticum, Calicophoron ijimai*, adenosine triphosphatase, bitionol, oxinide, trichlorophene.

SUMMARY

Activities and properties of adenosine triphosphatases in mitochondrial and microsomal fractions of trematodes *Eurytrema pancreaticum* and *Calicophoron ijimai* were studied. The highest ATPase activity was observed in mitochondrial fractions. The effect of anthelmintic preparations on activity of enzyme was investigated. Trichlorophene, bitionol, oxinide, G-937 and G-1028 turned out to be the most effective preparations.